

Artigo de Revisão Bibliográfica  
Mestrado Integrado em Medicina

# **A IMPORTÂNCIA DO COMPLEMENTO NA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA ISQUÊMICA**

Isabel Patrícia Fonseca Silva

**Orientador:** Jorge Malheiro  
Porto, 2017

## **A IMPORTÂNCIA DO COMPLEMENTO NA INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA ISQUÉMICA**

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Medicina submetida ao Instituto de  
Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto

Autor: Isabel Patrícia Fonseca Silva

Categoria: 6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do  
Porto

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto, Portugal

Orientador: Joaquim Jorge dos Anjos Malheiro

Categoria: Licenciado em Medicina pela Universidade do Porto. Assistente de  
Medicina I do MIM do ICBAS/HSA-CHP. Assistente Hospitalar Graduado de  
Nefrologia do HSA-CHP

Porto, 2017

# Índice

<b>1 Agradecimentos .....</b>	<b>4</b>
<b>2 Resumo.....</b>	<b>5</b>
<b>3 Abstract .....</b>	<b>6</b>
<b>4 Abreviaturas .....</b>	<b>7</b>
<b>5 Objetivos.....</b>	<b>8</b>
<b>6 Material e Métodos .....</b>	<b>8</b>
<b>7 Lesão Renal Aguda .....</b>	<b>9</b>
<b>7.1 Inflamação na LRA.....</b>	<b>10</b>
<b>8 Ativação do Complemento na LRA isquêmica.....</b>	<b>11</b>
<b>8.1 Ativação do Complemento - Via Clássica e Via da Lectina .....</b>	<b>12</b>
<b>8.2 Ativação do Complemento - Via Alterna .....</b>	<b>13</b>
<b>8.3 Ativação do Complemento – Proteínas Reguladoras.....</b>	<b>14</b>
<b>8.4 Ativação do Complemento e Inflamação.....</b>	<b>16</b>
<b>8.4.1 C5a e C3a .....</b>	<b>17</b>
<b>8.4.2 Complexo de Ataque à Membrana.....</b>	<b>19</b>
<b>9 O Complemento no Transplante Renal.....</b>	<b>19</b>
<b>10 Sistema do Complemento como Alvo Terapêutico .....</b>	<b>21</b>
<b>11 Conclusão.....</b>	<b>23</b>
<b>Referências .....</b>	<b>25</b>
<b>ANEXO A: .....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXO B: .....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXO C: .....</b>	<b>32</b>
<b>ANEXO D: .....</b>	<b>32</b>

## **1 Agradecimentos**

Ao Dr. Jorge Malheiro, pela orientação desta tese, de forma clara e assertiva, pela sua disponibilidade em esclarecer todas as minhas dúvidas, ajudando-me a focar o essencial. Um especial agradecimento à Dra. Sofia Santos pela disponibilidade e ajuda na fase final deste trabalho.

À minha família e ao João pelo imenso apoio, tornando todas dificuldades mais fáceis de superar.

Aos meus amigos, por todo o companheirismo e motivação.

## 2 Resumo

A lesão renal aguda caracteriza-se por uma perda repentina da função renal. A isquemia é uma causa comum de lesão renal aguda em pacientes hospitalizados, sendo esta etiologia mais frequente em doentes que foram submetidos a transplante. Estudos mostraram que a lesão isquêmica é acompanhada por uma robusta resposta inflamatória e que esta resposta à hipóxia resulta de uma ativação do complemento. Assim, esta revisão bibliográfica tem como objetivo perceber de que forma o sistema do complemento contribui para a lesão renal pós-isquemia/reperfusão.

Quando submetidas a hipóxia, as células epiteliais do túbulo proximal parecem estar associadas à síntese de C3 e à diminuição das proteínas inibidoras do complemento, mas a via pela qual o complemento é ativado ainda não é clara. A via alterna parece ser determinante para a ampliação da ativação do complemento.

O sistema do complemento pode induzir as células tubulares a produzirem citocinas, iniciando uma resposta inflamatória aquando da reperfusão. Estudos realizados em ratinhos com deficiência do complemento demonstraram que estes estavam protegidos da lesão renal por isquemia. Para além disto, os componentes deste sistema, tais como C5a e C3a, parecem estimular mediadores inflamatórios e promover a lise celular, através da formação do complexo de ataque à membrana.

O caso da lesão de isquemia/reperfusão associada ao transplante renal também é abordado. Durante este procedimento, o rim transplantado é privado de perfusão por um determinado período sofrendo algum grau de isquemia. A ativação do complemento pode ser uma causa importante de lesão por isquemia/ reperfusão no aloenxerto, culminando na *delayed graf function*. Os fármacos inibidores do complemento poderão, assim, representar uma nova abordagem para pacientes com ou em risco de lesão renal aguda isquêmica e *delayed graf function*. Alguns desses inibidores são abordados nesta revisão.

### Palavras-chave:

Lesão renal aguda, complemento, isquemia, reperfusão, inflamação, transplante renal

### **3 Abstract**

Acute renal injury is characterized by a sudden loss of renal function. Ischemia is a common cause of acute renal injury in hospitalized patients and the most usual cause in patients who underwent renal transplantation. Some studies have shown that ischemic injury is accompanied by a robust inflammatory response and this results from complement activation. Thus, this literature review aims to understand how the complement contributes to post-ischemia/ reperfusion renal injury.

Under hypoxic conditions, proximal tubule epithelial cells appear to be associated with C3 synthesis and with the decrease of the complement inhibitor proteins but the pathway by which the complement is activated remains unclear. The alternative pathway seems to be determinant for the enhancement of complement activation.

The complement system may induce tubule epithelial cells to produce cytokines, initiating an inflammatory response upon reperfusion. Studies that used mice with complement deficiency showed that they were protected from renal damage by ischemia. In addition, some components of this system, like C5a and C3a seems to stimulate inflammatory mediators, and promote cell lyses due to membrane attack complex formation.

The specific case of injury associated with renal transplantation is also discussed here. During this procedure the transplanted kidney is deprived of perfusion for a certain period and usually suffers some degree of ischemia. Complement activation may be a major cause of ischemia / reperfusion injury in the allograft, leading to delayed graft function. Complement inhibitor drugs seems to be an important new approach for patients suffering from, or at high risk of developing acute renal injury and delayed graft function. Some of these complement inhibitors are discussed in this review.

#### **Key-Words:**

Acute renal injury, complement, ischemia, reperfusion, inflammation, renal transplantation.

## **4 Abreviaturas**

**APCs** - Células apresentadoras de antígenos

**BMP-7**- Bone morphogenetic protein-7

**C3aR**- Recetor de C3a

**C5aR**- Recetor de C5a

**C4bp** - C4-binding protein

**CR1**- Recetor do complemento 1

**Crry**- CR1-related gene/ protein y

**DAF**- Decay-accelerating factor

**DGF**- Delayed graft function

**ENA-78** - Epithelial neutrophil-activating protein 78

**HLA**- Human leukocyte antigen

**I/R**- Isquemia/Reperusão

**KC**- Keratinocyte-derived chemokine

**KIM-1** - Kidney injury molecule-1

**LRA**- Lesão Renal Aguda

**MAC**- Complexo de ataque à membrana

**MBL**- Lectina ligadora de manose

**MCP**- Membrane cofactor protein

**MCP-1**-Monocyte Chemoattractant Protein-1

**MSH**-  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone

**NTA**- Necrose Tubular Aguda

**RANTES**-Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted

**RNA<sub>m</sub>**- RNA mensageiro

**SHUa** -Síndrome hemolítico urémico atípico

**TRAF6** - TNF receptor activating factor 6

## **5 Objetivos**

A presente revisão pretende reunir as evidências mais recentes sobre o papel do sistema do complemento na lesão de isquemia/reperfusão no contexto da lesão renal aguda (LRA) isquêmica e, numa forma particular desta entidade, associada à transplantação, *delayed graft function*. Desta forma, também serão abordadas as possibilidades terapêuticas para a inibição do sistema do complemento e o seu papel atual na prevenção/tratamento da LRA isquêmica.

## **6 Material e Métodos**

O material bibliográfico utilizado para a realização desta revisão foi obtido através de uma pesquisa efetuada em bases de dados eletrónicas, nomeadamente o PUBMED, UpToDate, MEDLINE e Medscape, assim como em várias revistas médicas. Nesta revisão, apenas foram incluídos artigos publicados a partir do ano de 2000 (incluído).



## 7 Lesão Renal Aguda

O rim, como órgão altamente complexo, participa na regulação do volume extracelular, na regulação da concentração de certas substâncias osmoticamente ativas, na regulação do pH plasmático, na excreção de produtos resultantes do metabolismo celular e no catabolismo de determinadas hormonas (1).

Devido às suas diversas funções torna-se desafiante fornecer tratamento de suporte e proteger o organismo, num contexto de lesão renal aguda. Para além disto, o dano renal pode ocorrer antes, durante e após a perda de função renal se manifestar (1).

A lesão renal aguda (LRA) é definida por uma rápida e abrupta diminuição da taxa de filtração glomerular. Esta condição é, geralmente, caracterizada por um aumento sérico da concentração da creatinina ou por azotemia (elevação sanguínea da concentração de compostos de azoto) (2, 3).

A LRA pode ser classificada em 3 categorias:

- Pré-renal – Uma resposta adaptativa a uma depleção de volume e hipotensão, com a preservação da estrutura dos nefrónios (2).
- Intrínseca – Uma lesão resultante de danos renais citotóxicos, isquémicos ou inflamatórios, com dano estrutural e funcional do rim. A forma mais comum desta etiologia é a necrose tubular aguda (NTA) causada por isquemia ou por citotoxicidade (4).
- Pós-renal – Resultado de uma obstrução à passagem da urina (4).

Apesar desta classificação ser muito útil clinicamente, muitas características patofisiológicas são partilhadas entre as diversas categorias (4).

As duas formas de lesão renal que têm por base a isquemia podem, então, ser classificadas em azotemia pré-renal e quando há atingimento e alteração das células tubulares, NTA e juntas correspondem a mais de metade dos casos de LRA observados em pacientes hospitalizados. Assim, a LRA isquémica pode resultar de uma diminuição temporária da perfusão renal devido a causas pré-renais ou resultar de causas microvasculares intrarrenais como vasoconstrição ou obstrução (5, 6).

A LRA isquémica é uma complicação comum da sépsis e do choque séptico. A taxa de mortalidade da LRA associada a este quadro é maior do que na LRA de outra etiologia. A indução da síntese de óxido nítrico, devido à sépsis, leva à diminuição da resistência vascular sistémica. Esta vasodilatação arterial predispõe estes doentes à LRA (7). Assim, a alteração da macrocirculação renal pode resultar em isquemia renal global, dano celular e NTA. Por outro lado, novas evidências têm mostrado que a LRA associada à sépsis pode acontecer sem hipoperfusão, estando associada a disfunção microvascular, inflamação e a uma resposta adaptativa das células tubulares (8).

A *delayed graft function* (DGF) é uma manifestação de LRA atribuída unicamente ao processo de transplantação renal. Esta acomete aproximadamente 25% dos pacientes transplantados com rins de doadores cadáver. A DGF é geralmente

definida como a necessidade de diálise durante a semana seguinte à realização do transplante. A disfunção renal, na primeira semana pós-transplante, parece ser determinante para a sobrevivência do aloenxerto e para a sobrevida do paciente. Apesar de esta manifestação não estar totalmente compreendida, mecanismos patológicos derivados do dador como a LRA isquêmica e inflamação, mecanismos derivados do recetor como a lesão por reperfusão e a resposta imune inata e adaptativa, parecem contribuir para a DGF (9, 10).

## **7.1 Inflamação na LRA**

Alguns estudos em modelos animais mostraram que a lesão isquêmica é acompanhada por uma robusta resposta inflamatória e que a resposta à hipóxia contribui para a lesão tecidual. Portanto, terapias que tenham como alvo determinadas células inflamatórias ou proteínas como o complemento, quimiocinas e moléculas de adesão, sintetizados pelas células renais em resposta à hipóxia ou à reperfusão, podem melhorar a LRA isquêmica (11).

Na LRA isquêmica, a resposta inflamatória resulta na lesão e ativação endotelial aumentando a adesão dos leucócitos, o aprisionamento destes e consequente compromisso do fluxo microvascular. Tipicamente, estas interações têm um maior impacto na medula externa, comparativamente com o córtex renal, apresentando-se com sinais de congestão (12). Para além disto, um fluxo sanguíneo retrógrado foi observado ao nível dos capilares peritubulares, durante a reperfusão, após isquemia (13).

Em adição à lesão endotelial, há um aumento das moléculas de adesão de modo a promoverem as interações endotélio-leucócitos. Estas moléculas incluem integrinas, a molécula de adesão intercelular (ICAM-1), a molécula de adesão vascular celular (VCAM), a P-selectina e E-selectina. (14) O aumento destas moléculas associado a outros fatores resultantes da lesão potencia as interações entre leucócitos e plaquetas levando, possivelmente, a uma obstrução dos pequenos vasos. (12)

Na isquemia também se observa infiltração leucocitária e apesar da literatura relativamente à infiltração por neutrófilos, neste tipo de lesão, ser controversa, uma vez que são poucos os neutrófilos encontrados nas biópsias de pacientes com NTA, acredita-se que a sua marginalização no endotélio está associada a uma fase precoce da inflamação e que estes estão mais associados à obstrução microvascular e subsequente libertação de radicais de oxigénio e proteases do que com a lesão tubular renal (15).

No caso dos leucócitos mononucleares, estes são predominantes na vasa reta (16). A infiltração de macrófagos e das células T acontece mais tardiamente e persiste até à fase de recuperação (11, 12). Estudos em animais mostraram que ratinhos sem células T CD4+ e CD8+ estavam protegidos da lesão de isquêmica/reperfusão (I/R), mostrando, assim, o papel fundamental destas células na mediação desta lesão (17).

A lesão do túbulo proximal pode, também, modular a atividade dos linfócitos T, uma vez que as células epiteliais desta porção do túbulo, expressam CD40, que

interage com o recetor CD154 das células T. A ligação CD40-CD154 leva a ativação do TRAF6 (*TNF receptor activating factor 6*), o que por sua vez leva à estimulação da produção de IL-8 e MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) (18).

Além da contribuição do endotélio e dos leucócitos para a resposta inflamatória após lesão isquêmica, o epitélio tubular renal também gera mediadores que irão potenciar a inflamação (19). Desta forma, as células epiteliais tubulares libertam citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1- $\beta$  e TGF- $\beta$ . Libertam, também, quimiocinas como RANTES (*regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted*) e ENA-78 (*epithelial neutrophil-activating protein 78*) (16, 20-22). O receptor Toll-like 2 (TLR 2), um importante componente da resposta inflamatória, tem a sua expressão tubular aumentada após a lesão de isquemia/reperfusão (21).

Por outro lado, proteínas como BMP-7 (*bone morphogenetic protein-7*), membro da superfamília TGF- $\beta$ , têm sido associadas a proteção contra a lesão isquêmica, atuando no túbulo proximal, reduzindo os níveis de MCP-1 e de IL-8, assim como IL-6 e IL-1- $\beta$  (23). A hormona MSH (*a-melanocyte-stimulating hormone*) é uma citocina anti-inflamatória que está associada à proteção renal perante uma lesão por I/R, atuando nos recetores de melanocortina dos túbulos renais levando à inibição da ativação de genes causadores de lesão citotóxica e inflamatória (24).

## 8 Ativação do Complemento na LRA isquêmica

O sistema do complemento, que tem diferentes vias de ativação (anexo A), tem sido implicado na patogénese da lesão isquêmica em diversos órgãos incluindo o coração, o intestino e o músculo-esquelético (25). Estudos realizados em animais com deficiência do complemento, demonstraram que estes estavam protegidos da lesão renal por isquemia (26). A ativação do complemento é, assim, um mecanismo importante de lesão renal. Como já foi falado anteriormente, o túbulo renal proximal é um local muito afetado pela lesão renal isquêmica. A ativação do complemento no túbulo isquémico é uma importante causa de lesão renal, dado que ocorre alteração do fenótipo das células tubulares epiteliais no sentido de ativar o complemento em detrimento da sua inibição (27, 28).

Células epiteliais dos túbulos proximais em hipóxia estão associadas à síntese de C3 e à diminuição das proteínas inibidoras do complemento na sua membrana basal (29). Para além disto, uma vez ativado, o complemento gera anafilatoxinas como C3a e C5a. Estudos realizados mostraram níveis sistémicos aumentados de C3a após a lesão isquêmica (30, 31). A ativação do complemento pode induzir as células a produzirem numerosas citocinas e quimiocinas. O sistema do complemento pode, assim, reconhecer uma lesão por hipóxia e induzir as células epiteliais tubulares a produzirem citocinas, iniciando uma resposta inflamatória à lesão (28, 30).

Estudos com lesão por I/R mostraram um aumento no depósito de C3 na membrana basal das células dos túbulos renais, mas este depósito não foi observado nos glomérulos nem nos capilares peritubulares (27, 32).

As alterações histológicas no rim variam na sua localização mediante os diferentes tipos de lesões, por isso é possível que a ativação do sistema do complemento seja diferente consoante as diferentes localizações da LRA (27).

Nas células lesionadas por isquemia, existem vários mecanismos pelos quais o sistema do complemento pode ser diretamente ativado. Anticorpos naturais podem-se ligar a neo-epítopos exibidos por tecidos lesionados pela isquemia/reperfusão, ativando a via clássica. Estudos mostraram a ativação desta via através da ligação de anticorpos a neo-epítopos gerados pelo endotélio em hipóxia (33). Desta forma, moléculas imunes como os anticorpos naturais, a lectina e proteína C reativa podem reconhecer marcadores de lesão e assim ativar o sistema do complemento. Outras modificações decorrentes da lesão, como a alteração da expressão das proteínas reguladoras do complemento, ou a disrupção da organização celular apical-basolateral permitem que proteínas que estão normalmente na parte apical acedam à região basolateral, levando à criação de um microambiente que torna possível a ativação do sistema do complemento (27).

## **8.1 Ativação do Complemento - Via Clássica e Via da Lectina**

Tradicionalmente a via clássica do complemento era apontada como responsável pela ativação do complemento associada à lesão por I/R. Os neo-epítopos seriam gerados pelo tecido lesado e exposto, ativando esta via (34). Posteriormente, alguns estudos tentaram mostrar o papel desta via neste tipo de lesão. Uma vez que a proteína do complemento C4 está associada quer à via clássica quer à via da lectina e que a lesão por I/R está associada a uma maior taxa de rejeição de enxerto, alguns estudos tentaram mostrar as diferenças nas taxas de rejeição no transplante renal em ratinhos com deficiência de C4. Apesar disto, não foi encontrada associação significativa entre o sucesso do transplante e a ausência de C4 quer no dador quer no recetor. Aquando da rejeição, não foi detetada diferença significativa na resposta mediada pelos alo-anticorpos nos diferentes grupos. Estes resultados mostraram, assim, a dispensabilidade deste componente na ativação do sistema do complemento (35).

Estudos com animais com deficiência do gene RAG-1 foram realizados. Estes animais são incapazes de gerar IgM e IgG, tendo a ativação do complemento pela via clássica diminuída. Neste caso, a suscetibilidade às lesões por I/R era igual tanto nos animais com deficiência do gene RAG-1 assim como nos controlos, não havendo redução da ativação do complemento (36).

A via da lectina é ativada pela ligação da *manose binding lectin* (MBL) a resíduos de carboidratos da superfície de bactérias e também de algumas células lesadas (27). Apesar da via da lectina não necessitar de anticorpos para ser ativada, a necessidade de C4 por parte desta levou, inicialmente, a refutarem a intervenção desta via na ativação do complemento perante a lesão por I/R (36). Posteriormente, alguns estudos realizados em animais demonstraram que esta lesão induz a ativação da via da lectina, pois estes apresentavam as duas formas de MBL (MBL-A e MBL-C), depositadas nas células epiteliais tubulares lesadas. Observaram, também, que a

deposição da MBL era similar à deposição de C3, C6 e C9, induzidas pela isquemia. Posteriormente foi também demonstrado que a deposição de MBL precede a deposição de C3 e C6 (37). Recentemente observou-se que a citoqueratina está envolvida na ativação da via da MBL, uma vez que esta se encontra aumentada após o stress induzido pela hipóxia no endotélio e que a sua inibição previne a deposição de MBL neste (37, 38).

Em 2010, um estudo realizado em animais (porcos) foi o primeiro a demonstrar o envolvimento tanto da via clássica como da via da lectina na ativação do complemento após lesão por I/R, uma vez que a inibição destas vias produziu uma substancial redução da deposição do complemento, diminuição da infiltração por células inflamatórias e do dano tubulointersticial. Este estudo refutou os resultados demonstrados anteriormente que indicavam que nem a via clássica nem a via da lectina estavam envolvidas na lesão por I/R. Por outro lado, os estudos prévios tinham sido apenas realizados em roedores não havendo informação para animais de maior porte. Mais ainda, depósitos de C4d foram observados ao nível dos capilares peritubulares e glomerulares, co-localizados com a deposição de MBL e de C1q, indicando um papel central do endotélio associado à ativação do complemento. A hipóxia pode induzir alterações permitindo que a MBL se ligue à citoqueratina exposta, causando a ativação local da via da lectina (39).

A ativação da serina protease associada à MBL, MASP-2 (componente da via da lectina), pode levar a uma ativação do complemento pela clivagem de C3 independente de C4, o que é concordante com a falta de proteção para lesões por I/R na deficiência de C4 (40). Isto é coerente com estudos prévios que já tinham mostrado que ratinhos com deleção das proteínas MBL estavam protegidos contra a lesão renal por reperfusão, sendo que nestes não foi observada NTA, ao contrário dos controlos. Foi também registado que esta proteção foi menos significativa que a proteção conferida pela deficiência do C3 (41).

Posto isto, o papel da via da lectina, assim como da via clássica, é controverso e o seu nível de intervenção na lesão aguda isquémica ainda não é claro (27).

## **8.2 Ativação do Complemento - Via Alterna**

A ativação da via alterna é central para a patogénese da LRA incluindo a LRA isquémica. Ao contrário da deficiência de C4 e da ativação do gene RAG-1 que não conferia qualquer proteção, a deficiência do fator B (essencial para a ativação do complemento pela via alterna), foi associada a proteção perante a lesão por I/R, com menor lesão funcional e morfológica e menor deposição de C3 tubulointersticial. Por sua vez, a existência deste fator foi associada a lesão tubular significativa, particularmente na medula externa após lesão por I/R, associada a aumento do depósito de C3 e influxo de neutrófilos (25, 42).

Uma deposição intermitente de C3 ao longo da membrana basal tubular em rins morfológicamente normais foi demonstrada indicando um baixo nível de ativação do complemento basal. Os rins com NTA eram caracterizados por uma deposição tubulointersticial de C3 mais extensa e ausência de deposição de C4. O padrão de

deposição de C3 na NTA era compatível com o que foi observado em estudos prévios realizados em animais. De facto, a ausência de deposição de C3 nos rins de ratinhos com deficiência do fator B aliado ao facto de não haver deposição de C4 em rins humanos morfológicamente normais leva a concluir que provavelmente a ativação basal do complemento se deve à via alterna (25, 43).

Esta importância da via alterna é corroborada pelo facto de que ratinhos deficientes em C1q, C4 ou MBL- A/C, não apresentaram a ativação do complemento alterada, o que leva a pensar que a via clássica e a via da lectina podem contribuir para a ativação tubulointersticial do complemento, mas são dispensáveis para tal (32).

A forma como a via alterna é ativada ainda não é bem conhecida, havendo vários mecanismos possíveis para tal (anexo B). Uma das formas para esta ativação é a criação de componentes do complemento localmente. Um aumento dos níveis da amónia pode justificar este depósito de C3. O aumento da amoniogénese pelos nefrónios remanescentes, leva à ligação da amónia com C3 interagindo com este e criando uma molécula C3 (H<sub>2</sub>O)-like, permitindo a sua ligação ao fator B e servindo de substrato para o fator D, iniciando a via alterna nos túbulos (25, 33, 44).

### 8.3 Ativação do Complemento – Proteínas Reguladoras

A ativação do complemento pode estar associada ao aumento de ativadores do sistema do complemento que suplantam os inibidores endógenos deste sistema ou à disrupção da regulação do complemento pela LRA isquémica (25). O balanço entre as proteínas do complemento e os seus fatores ativadores determinam a ativação do complemento (27).

As proteínas reguladoras do complemento ligadas às membranas incluem a *decay-accelerating factor* (DAF/CD55), a *membrane cofactor protein* (MCP/CD46) e a *complement receptor 1* (CR1/CD35) cuja proteína análoga encontrada em roedores destas duas últimas é a *CR1-related gene/protein y* (Crry) e a CD59. Outras proteínas reguladoras como o fator H, o fator I, a *C4-binding protein* (C4bp) e o inibidor de C1 existem no plasma e limitam a ativação do complemento na sua fase solúvel. A maior parte destas proteínas reguladoras atuam ao nível da C3 convertase, acelerando a sua dissociação ou clivando enzimaticamente C3b, impedindo a sua participação na cascata do complemento (45).

As proteínas reguladoras do complemento são expressas nas células glomerulares, epiteliais tubulares e no endotélio microvascular. As células mesangiais expressam diversas proteínas reguladoras, mas as células tubulares apenas expressam a MCP, uma proteína transmembranar que regula o complemento servindo como co-fator para a clivagem de C3b e C4b mediada pelo fator I. Para além da MCP, as células tubulares também apresentam uma pequena expressão de CD59 na membrana apical (27, 46). A expressão da Crry em ratinhos, é restrita à parte basolateral das células epiteliais tubulares o que é concordante com a deposição C3 no rim pós-isquémico. Devido à maior concentração da Crry na membrana basolateral, as células epiteliais tubulares têm uma maior eficiência a regular o complemento neste local do que na superfície apical. A expressão de Crry nas células epiteliais mostrou-

se reduzida após a isquemia e esta redução parece ser suficiente para ativar localmente o complemento (anexo C) (47).

Enquanto que a MCP e o CR1 são co-fatores para a clivagem de C4b e C3b, as proteínas plasmáticas, fator H e C4bp, são específicas para C3b e C4b, respetivamente (46). Desta forma o fator H regula a via alterna, sendo um co-fator do fator I, e o C4bp regula a via clássica. O C4bp age principalmente como co-fator do fator I para a clivagem do C4b, tendo também uma capacidade reduzida de inativação do C3b (48, 49). O inibidor de C1 está associado à inativação de C1r e C1s da via clássica e com a inativação da MASP da via da lectina, inibindo as primeiras fases da ativação do complemento (50).

Assim como com a proteína MCP, os defeitos do fator H estão fortemente associados ao desenvolvimento de doença renal. Este fator regula a via alterna quer na membrana apical como na basolateral das células epiteliais tubulares, mas a sua ação é inadequada para prevenir a ativação espontânea desta via (47).

Para além do fator H circulante prevenir o consumo de C3 na fase solúvel, o facto dele inibir a via alterna em determinados tecidos indica que o fator H interage com a superfície destes (51, 52). Muitas regiões deste fator ligam-se a superfícies aniónicas, como membranas ricas em sulfato de heparina e ácido siálico, assim como a tecidos com C3b e C3d (52). A ativação da via alterna em determinado tecido é influenciada pela afinidade deste fator à sua superfície. A ativação não controlada da via alterna em ratinhos com diminuição da Crry na superfície das membranas, indicamos que o fator H, apesar dos seus altos níveis circulatórios, tem uma capacidade limitada em proteger a superfície das células epiteliais tubulares da hipóxia deixando o rim isquémico suscetível à ativação da via alterna (29, 51).

Estudos mostraram que a interação entre o fator H e as células limita a inflamação mediada pela via alterna nestes tecidos e quando esta interação foi bloqueada, estes animais apresentaram-se com uma maior ativação tubulointersticial do complemento e com lesão mais severa (51).

Posto isto, a afinidade do fator H para as estruturas renais parece ser determinante para a ativação do complemento. Para além disto, a permeabilidade vascular, as concentrações das proteínas do complemento no fluido intersticial e a produção local destas são, também, fatores importantes para a ativação tubulointersticial do complemento. Uma terapêutica eficaz deve considerar a penetração tecidular da molécula assim como a afinidade para o alvo. Desta forma, é possível que uma concentração suprafisiológica do fator H seja eficaz na inibição desta ativação (27, 51).

A proteína DAF inibe a ativação do complemento nos passos dependentes da C3 e C5 convertase e a CD59 previne a formação de complexos de ataque à membrana (MAC). Apesar de não ser produzida nos túbulos, a proteína DAF está presente nas estruturas vasculares renais. Ratinhos com deficiência da proteína DAF estão associados a uma maior lesão renal isquémica associada a maior infiltração de neutrófilos. No caso de ratinhos com deficiência de CD59 e DAF, houve lesão por I/R mais severa, acompanhada de deposição endotelial de C3, MAC e trombozes dos capilares medulares, sendo a lesão microvascular o evento primário na lesão

isquêmica. Esta lesão endotelial conta com a contribuição de anafilotoxinas e da MAC e contribui para um aumento das moléculas de adesão, das citocinas inflamatórias e dos mediadores lipídicos, levando à congestão vascular e infiltração de leucócitos. Apesar disto, a deficiência apenas de CD59, não implicou consequências. Este facto permitiu concluir que DAF e CD59 têm um papel sinérgico na prevenção da lesão por I/R e que a proteína DAF tem um papel importante na iniciação da atividade do complemento (53).

Um estudo posterior mostrou que em ratinhos com deficiência de DAF e CD55, a ativação da via alterna requeria a ligação da proteína properdina ao endotélio, não sendo possível saber se em animais sem estas deficiências, esta ligação também aconteceria. Esta proteína é conhecida por estabilizar a C3 convertase, C3bBb, da via alterna. Apesar de inicialmente a properdina não parecer relacionada com a iniciação desta via, foi observado que esta tem a capacidade de se ligar a uma superfície suscetível, facilitando a formação desta enzima, C3bBb. Foi, ainda, observado que a properdina se pode ligar à superfície apical das células tubulares regulando positivamente a ativação do complemento. Apesar disto, ainda não foi possível estabelecer se a própria proteína inicia a ativação ou se apenas é necessária para que a ativação se inicie (54, 55).

Apesar de a maior parte de C3 ser produzido pelo fígado, uma pequena parte é extra-hepática. As células tubulares epiteliais têm a capacidade de produzir C3, C4 e fator B e foi demonstrado que a isquemia aumenta a produção local de C3 no rim (27). Foi ainda demonstrado que esta produção local de C3 num rim transplantado está associada à lesão renal aguda e ativação do complemento. Os resultados deste estudo mostraram, ainda, o domínio do C3 produzindo localmente e o papel redundante do C3 circulatório no interstício renal (56).

As variações genéticas podem influenciar a magnitude da resposta inflamatória em algumas localizações devido à diferente expressão de mediadores inflamatórios. No caso do rim, há uma regulação positiva da transcrição do complemento resultado num fenótipo pro-inflamatório que leva à libertação de moléculas vasoativas e ativadores de leucócitos (56). Foi ainda demonstrado que rins transplantados de doadores cadáver apresentavam uma sobre-regulação dos genes do complemento comparativamente com os rins que vinham de doadores vivos. Da mesma forma, a função do enxerto a curto e a longo prazo, está inversamente relacionada com a expressão destes genes (57).

## **8.4 Ativação do Complemento e Inflamação**

Neutrófilos e leucócitos recrutados para as áreas de lesão contribuem para a patogénese da LRA isquêmica com reperfusão. As moléculas de adesão, como ICAM-1 e P-selectina, são essenciais para a migração destas células. A expressão da ICAM-1 tubular parece ser regulada pelo complemento, uma vez que é dependente de C3. Apesar disto, não se sabe se o controlo por parte de C3 é por um mecanismo parácrino ou autócrino (57). Pelo contrário, a P-selectina não parece ser regulada pelo C3 (58).



#### 8.4.1 C5a e C3a

Durante a ativação do complemento pequenos péptidos com propriedades pró-inflamatórias são libertados, o C5a e o C3a. O C5a é gerado na sequência da clivagem do C5 por diferentes vias do complemento e tem o seu recetor expresso em neutrófilos, monócitos, células endoteliais e células epiteliais do túbulo proximal e distal (59, 60).

Entre os seus efeitos encontra-se a quimiotaxia, a desgranulação celular e a produção de citocinas. A ligação do C5a ao seu recetor (C5aR) pode induzir a secreção de IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1 e do TNF- $\alpha$  nos monócitos/ macrófagos; induz a expressão do fator tecidual e da P-selectina nas células endoteliais e nos granulócitos; além disso, medeia a quimiotaxia, fagocitose, enzimas proteolíticas e aumento da expressão de moléculas de adesão. Nas células mesangiais, o C5a induz uma resposta proliferativa, o que é comum em algumas doenças glomerulares, mas esta resposta não foi observada nas células tubulares (60).

Um estudo posterior mostrou que a inibição do C5 usando um anticorpo específico para este, prevenindo a formação de C5a e a formação da MAC, inibiu a indução das CXC quimiocinas, *keratinocyte-derived chemokine* (KC) e *macrophage inflammatory protein 2* (MIP-2), assim como o influxo de neutrófilos, porém não afetou a expressão de TNF- $\alpha$ . Apesar de não ser conhecido nenhum mecanismo de *feedback* entre C5 e C3, esta inibição de C5 também preveniu a deposição extensa de C3 (30).

Porém, outro estudo mostrou que a estimulação com C5a e C3a levou a um aumento da TNF- $\alpha$  e KC produzido pelas células tubulares epiteliais, o que resultou na lesão destas células, por mecanismos autócrino e parácrino. A quimiocina KC promoveu, também, quimiotaxia dos leucócitos para o tecido renal. O aumento de IL-6 produzido pelos macrófagos também foi observado. Para além disto, este estudo mostrou uma grande redução da expressão de mediadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1b, KC, MCP-1) e infiltração de neutrófilos, macrófagos e monócitos nos rins pós-isquemia, em ratinhos com deficiência do C5aR e uma discreta redução nos ratinhos com deficiência do C3aR. Assim, a lesão foi reduzida nos ratinhos com estas deficiências (61). O grande número de recetores C5a e C3a nas células epiteliais tubulares e nas células inflamatórias corroboram a hipótese de que o principal mecanismo destes recetores seja ativar estas células, aumentar a infiltração ou ativar o sistema imune (28, 61).

A *kidney injury molecule-1* (KIM-1) tem sido descrita como um biomarcador de lesão renal aguda. Estudos realizados em roedores mostraram que a sua expressão aumenta dramaticamente depois da lesão no epitélio do túbulo proximal pós-isquemia. Para além disto, esta proteína parece ter um papel funcional contribuindo para o influxo de neutrófilos e produção de citocinas. O aumento desta proteína parece estar dependente dos recetores de C3a e C3b, sugerindo que estes fragmentos do complemento possam participar na modulação da patogénese da LRA isquémica pela estimulação da proteína KIM-1 (61).

A proteína C3a, que resulta da clivagem de C3, tem recetores apenas nas células epiteliais tubulares e nas células epiteliais glomerulares, sem evidência destes nas células mesangiais ou nas células endoteliais (62).

Por outro lado, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos/macrófagos, células dendríticas, células T e B expressam este recetor. Apesar deste recetor ser expresso no córtex renal, a sua maior expressão é ao nível dos túbulos da medula renal e ao contrário dos outros recetores, este expressa-se na superfície luminal e basolateral das células do túbulo proximal. Isto sugere que este recetor possa mediar respostas celulares à ativação do complemento quer ao nível luminal como no interstício (62). Esta proteína exerce quimiotaxia nos leucócitos e induz uma série de mediadores inflamatórios (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ), promovendo também a desgranulação dos granulócitos e a libertação de histamina (62, 63). O colagénio Pro-1 $\alpha$  tipo 1 é induzido pela ativação do recetor de C3a podendo mediar a associação entre a ativação crónica do complemento com o desenvolvimento da fibrose intersticial progressiva (62).

A produção de MIP-2 e KC foi associada ao recetor de C3a (28). Estes são considerados potentes quimiotáticos para neutrófilos e são considerados mediadores de resposta inflamatória aguda (28, 64).

A produção aumentada pelas células tubulares epiteliais de IL-8 (análogo humano de MIP-2 e KC) associada a uma maior expressão do seu RNAm (RNA mensageiro) foi associada a C3a (28, 56).

Por fim, um estudo falhou em demonstrar que o uso de C3a induz a produção de citocinas, sugerindo que esta proteína talvez necessite de um co-fator para tal (28). Por outro lado, a ausência do recetor de C3a reduz a infiltração celular nos rins pós-isquemia e a inibição deste recetor está associada a uma atenuação de outras formas de lesão renal (61, 65). Apesar de estudos realizados mostrarem um papel predominante de C5a, a proteína C3a pode, também, ter um papel na patogénese da lesão por I/R (61).

Posto tudo isto, é plausível afirmar um possível papel de C3a e C5a na patogénese da LRA isquémica com reperfusão. As lesões isquémicas conduzem à ativação do complemento que por sua vez produz estas proteínas, que quando se ligam aos seus recetores, nas células epiteliais tubulares e nas células do sistema imune, levam a um aumento da expressão de citocinas e quimiocinas (anexo D). Estes mediadores inflamatórios recrutam mais leucócitos não só para o epitélio tubular, mas também para o interstício. Isto associado a uma possível ativação do endotélio renal, com recrutamento de leucócitos, leva a uma destruição do tecido renal (61).

A clivagem de C3b, por proteínas reguladoras, leva à formação de alguns fragmentos (iC3b/C3dg/C3d) que se ligam a recetores específicos (66). O recetores CR3 e CR4 ligam-se ao iC3b contribuindo para a fagocitose, sendo que o CR3 também regula citocinas e os leucócitos. Outro recetor, CR1g, recetor do complemento da família das imunoglobulinas, é expresso em tecidos onde residem macrófagos e estão associados à fagocitose ligando-se ao iC3b e C3b. No caso do CR1, este interage com o C3b e C4b promovendo a fagocitose mediada pelos neutrófilos, mas também contribui para a degradação dos seus ligandos pelo fator I. Este recetor atenua a amplificação do complemento. Este tem também a capacidade de se ligar ao iC3b e cliva-lo em C3dg. Tanto o iC3b como o C3dg podem-se ligar ao recetor CR2, o que promove a ativação e diferenciação das células B (45, 67). Apesar disto, os papéis destes recetores na LRA isquémica não são bem conhecidos (27).

#### **8.4.2 Complexo de Ataque à Membrana**

A deposição de C3b nas superfícies celulares leva à clivagem de C5 em C5a e C5b. Este último serve como base para a posterior associação de C6, C7, C8 e por fim C9, que faz com que esta estrutura tenha a conformação de um poro na bicamada lipídica da membrana plasmática. Este poro permite a passagem de íons e moléculas, criando um gradiente osmótico que culmina na indução da lise celular (anexo D) (68).

Estudos realizados em ratinhos com deficiência de C6 mostraram um grau similar de proteção para a lesão por I/R que os ratinhos com deficiências de C3. Estes resultados mostram que o MAC (na qual o C6 é essencial para sua formação) é um mecanismo a partir do qual o sistema do complemento leva a lesão (69). Este complexo de ataque à membrana induz a necrose da célula- alvo e exacerba a depleção de ATP nas células hipóxicas. A formação deste complexo ativa vias intracelulares, uma vez que induz a expressão, na superfície celular, de moléculas envolvidas em funções biológicas importantes (27, 70). Para além disto, o MAC que se mantém solúvel ativa neutrófilos e aumenta a expressão de moléculas de adesão pelo endotélio. Promove, também, a libertação de enzimas hidrolíticas, espécies reativas de oxigénio, metabolitos do ácido araquidónico e citocinas, exacerbando, também, as propriedades pró-coagulantes do endotélio (69, 70).

### **9 O Complemento no Transplante Renal**

A isquemia/reperfusão é inerente à transplantação pois todo o órgão doado é privado de perfusão por um determinado período (71).

Inevitavelmente, os rins transplantados sofrem algum grau de isquemia e a ativação do complemento pode ser uma causa importante de lesão por I/R no aloenxerto e contribuir uma disfunção deste (27). O transplante renal é iniciado por um trauma cirúrgico associado esta lesão, particularmente mais grave nos rins que provêm de doadores que faleceram (72).

Para além do impacto na função do enxerto, o tempo prolongado de “isquemia fria” contribui, também, para a falência tardia deste, provavelmente devido à fibrose pós-isquémica e à arterioesclerose nestes enxertos. Assim, a DGF, mesmo sem rejeição imunológica, está associada a redução da sobrevivência do enxerto (73).

Como já foi mencionado anteriormente, a lesão por I/R no pós-transplante leva a DGF. Esta complicação grave ainda não tem nenhum tratamento protocolado. Apesar de ser consensual que a DGF seja causada pela lesão por I/R, na qual a participação do complemento é determinante, a via pela qual este é ativado ainda permanece controversa (9).

A maioria dos estudos realizados que abordam a lesão por isquemia/reperfusão foram feitos em animais submetidos a períodos de “isquemia quente”, o que não é inteiramente representativo dos mecanismos envolvidos na transplantação visto que, na clínica, os órgãos doados frequentemente passam por períodos prolongados de “isquemia fria”(10).

Num estudo feito em 2006, foram realizados transplantes renais que tinham como doadores ratinhos com e sem deficiência do complemento e recetores ratinhos singenéticos. Para além disto foram ainda transplantados rins de doadores sem deficiência do complemento para recetores com esta deficiência. Foi identificado um papel crucial da proteína C3 do complemento, produzida no rim transplantado, na patogénese da lesão após a isquemia. O nível de C3 nestes rins era proporcional ao período de “isquemia fria” prévio à cirurgia de transplantação, mas o seu pico só era atingido após a reperfusão, 48h após a cirurgia (56). Isto pode ser explicado pelo importante papel que a produção local de C3 tem na lesão pós-isquemia, uma vez que quando a síntese local de C3 está ausente a resposta contra o rim transplantado pela parte do recetor é menos vigorosa (74, 75). A inibição do complemento local do dador, previamente ao transplante parece ter um efeito protetor maior do que a inibição sistémica do complemento no recetor, após o transplante, o que sugere um papel dominante do complemento local na lesão por isquemia/reperfusão nos enxertos renais (10).

A lesão pós-isquémica está associada um aumento da expressão glomerular de C3 RNAm. A rejeição celular subsequente foi, também, associada a este aumento nas células capazes de sintetizar C3, nomeadamente as células glomerulares e as tubulares (75).

Como já foi referido anteriormente, a ativação do complemento pode-se dar pela via alterna ou pela via da lectina durante a reperfusão pós-isquemia (56). No caso da via da lectina, a clivagem de C3 pela MASP2 aconteceria de uma forma pouco convencional uma vez que não envolve C4. Isto explicaria a ativação, sendo que a via alterna seria responsável pela ampliação desta atividade do complemento. Esta explicação é apoiada pela observação de componentes tanto da via alterna como da via da lectina em biópsias realizadas a corações e rins transplantados isquémicos (37, 40, 41, 76).

Mais tarde, um estudo mostrou que ativação da via alterna parece estar relacionada com o tempo de isquemia fria, e quanto maior for este tempo, pior será a função do enxerto. Durante a reperfusão são ativadas várias vias do complemento tais como a via alterna, a via da lectina e, também, acontece uma ativação do complemento mediada pelo sistema de coagulação (10). A restituição do fluxo sanguíneo nos enxertos está associada uma disfunção vascular aguda levando à produção local de trombina, associada com ativação da coagulação (77). A trombina está associada com a clivagem de C5 para C5a e C5b, ativando a parte terminal da via do complemento (78). A terapia anti-trombina está associada a uma proteção contra as lesões por isquemia/reperfusão e proteção contra a DGF e uma inibição desta ativação terminal previne esta lesão e protege o enxerto durante a reperfusão (10, 77, 79). Por fim, tanto a inibição da parte terminal da via do complemento (anti-C5b), comum às diferentes vias de ativação, como apenas a inibição da via alterna foram associadas com diminuição da ativação do complemento no pós-transplante. Apesar disto, a inibição da via alterna durante a reperfusão parece não ser suficiente e a uma inibição da parte terminal da ativação do complemento é necessária para uma terapêutica eficaz e mais completa (10).

Na tentativa de prevenir o rim doado da lesão por isquemia/reperfusão mediada pelo complemento, no pós-transplante, foram realizados alguns estudos. Os rins

doados foram perfundidos com uma proteína membranar reguladora do complemento, derivada do CR1 humano, (APT070). Posteriormente foram submetidos a períodos prolongados de temperaturas baixas (4°C). Neste estudo concluiu-se que há uma relação entre a duração do tempo de “isquemia fria” e a extensão das lesões tubulares mediadas pelo complemento, assim como se mostrou uma relação entre esta duração e a perda de função do enxerto. Após 16h de isquemia fria, os rins doados, que foram perfundidos com APT070, mostraram um aumento do número de enxertos funcionais, com menores taxas de LRA comparativamente aos enxertos provenientes dos controles (80).

A partir da ativação do complemento acontece uma série de eventos que resultam na lesão do tecido renal. O C5a, como já foi abordado anteriormente, estimula a quimiotaxia e desgranulação dos neutrófilos atuando, também nas células do parênquima renal através do seu recetor. Para além disto, foi observado que o bloqueio do C5aR durante a “isquemia fria” teve um efeito protetor para a DGF(80). O MAC irá ser responsável pela lise celular mas também pela expressão de mediadores pró-inflamatórios, que já foram abordados anteriormente. Tudo isto resulta na lesão por I/R (60, 68).

Por fim, uma grande parte dos rins doados provêm de pacientes em morte cerebral e estes transplantes estão associados a piores resultados comparativamente aos que têm dadores vivos. A morte cerebral, associada a inflamação renal, parece estar associada a uma ativação significativa do complemento local e sistémico, tanto em animais como em humanos. Nestes casos, foi, ainda, demonstrado que a inibição do CR1, administrado quer antes ou após a morte cerebral, originava uma função renal no pós-transplante consideravelmente melhor, refletindo um efeito protetor contra as lesões por I/R que ocorrem após o transplante (81).

## 10 Sistema do Complemento como Alvo Terapêutico

O eculizumab é um anticorpo monoclonal humanizado híbrido IgG2/IgG4 diretamente contra C5 humano, prevenindo a produção de C5a e C5b-9 (82). Apesar de este medicamento ser o único inibidor do complemento aprovado pela *Food and Drug Administration*, outros inibidores do complemento estão em estudo (50).

Atualmente este fármaco está indicado para o tratamento da hemoglobinúria paroxística noturna e para o síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa), reduzindo a recorrência de SHUa após o transplante (83, 84).

Na lesão renal por isquemia e reperfusão, como no pós-transplante imediato, este fármaco inibe a formação de C5b-C9 e previne também os efeitos do complemento ao nível do endotélio. O eculizumab mostrou-se capaz de prevenir a rejeição do transplante em pacientes com aloanticorpos anti-HLA (*human leukocyte antigen*) (85, 86).

Ensaio clínico para avaliar o papel do eculizumab na prevenção e tratamento da lesão por isquemia/reperfusão nos enxertos renais estão atualmente a ser realizados para investigar se este fármaco pode ser usado profilaticamente para evitar

a lesão por isquemia/reperfusão e a DGF. (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01756508, NCT01403389) (87).

Deficiências dos componentes terminais (C5,C6,C7,C8 e C9) estão associadas ao aumento de infecções por bactérias encapsuladas, particularmente a espécie *Neisseria* (88). Da mesma forma, eculizumab acarreta um risco semelhante para os doentes que recebem este fármaco, estando indicada a vacina meningocócica polivalente para estes. No caso das crianças, estas devem ser vacinadas contra *Streptococcus pneumoniae* e *Hemophilus influenzae* tipo B (82).

Alguns ensaios clínicos com inibidores do CR1, de C1 e com pexelizumab (anticorpo monoclonal humanizado contra C5), tentaram atenuar a lesão do miocárdio (89). Uma redução da lesão pós-isquemia foi demonstrada em pacientes submetidos a cirurgia na artéria coronária, pós-enfarte, com administração do inibidor de C1 (90).

A terapêutica com inibidores de C1 é usada frequentemente no angioedema hereditário por deficiência congénita ou adquirida do inibidor de C1. Um estudo na área da transplantação renal comparou a taxa de rejeição mediada por anticorpo, entre doentes em que foi administrada este inibidor versus placebo, sendo que nenhum dos doentes tratados apresentou rejeição(91). Esta terapêutica foi usada recentemente como terapia de resgate em caso de rejeição mediada por anticorpos e parece ainda melhorar a função do rim transplantado (92).

Após administração de pexelizumab, foi observada uma redução da mortalidade em pacientes submetidos a cirurgia de bypass coronário ou que tiveram enfarte agudo do miocárdio (80, 93).

O CR1 inibe as três vias do complemento e uma forma solúvel foi desenvolvida para uso terapêutico. Esta foi administrada em pacientes submetidos a cirurgia cardíaca, de modo a tentar prevenir a lesão isquémica. Neste estudo foi demonstrado uma inibição da ativação do complemento, mas não foi observado uma redução nas complicações (82, 94). Por outro lado esta terapêutica mostrou-se eficaz em algumas doenças renais (50).

De forma a atingir o complemento ativado localmente e não o sistémico, foi desenvolvido um inibidor do complemento que se liga ao CR1, fixando-o à superfície das células. Antes da realização do transplante, este agente foi administrado ao órgão doado previamente à reperfusão. Após serem sujeitos a 60 minutos de “isquemia quente”, estes rins transplantados mostraram um aumento da resistência à LRA, o que levou a uma melhor performance a curto e a longo-prazo deste, assim como uma diminuição da deterioração crónica do enxerto (71).

Tratamento com pequenas moléculas pode ser útil na inibição do complemento. Estudos mostraram que os antagonistas do C5aR preveniam a lesão renal no contexto de lesão por I/R, assim como uma maior sobrevivência do enxerto, levando a concluir que estas moléculas poderiam ter um papel útil no pré-tratamento da reperfusão renal em humanos (95, 96).

O anticorpo monoclonal para o fator B, necessário para a via alterna, preveniu a ativação do complemento em ratinhos com lesão por isquémia/reperfusão nos rins,

assim como a deposição de C3b no epitélio tubular. Houve, também, uma redução da necrose e da apoptose nos túbulos renais (31).

Administração de anticorpos para a properdina, previamente à reperfusão, também mostrou proteção da LRA isquêmica, o que sugere que uma terapia anti-properdina pode ter benefícios na lesão por I/R (54).

Roedores com deficiência de Crry apresentarem uma maior sensibilidade para a lesão por I/R. O tratamento com uma forma solúvel de Crry parece diminuir a deposição de C3, assim como, reduzir a lesão por I/R intestinal destes, mesmo quando administrada 30 minutos após o início da reperfusão. Apesar disto, não foi observada diminuição da lesão renal associada à reperfusão após isquemia (26, 42).

A administração do fator H parece ser benéfica para pacientes com mutações genéticas do fator H, mas atualmente ainda não foi determinado o seu uso para doenças renais (82).

A administração da proteína DAF solúvel foi associada a uma inibição do complemento tanto *in vitro* como *in vivo*, mas a falta do fator I parece limitar a sua aplicação. Por outro lado a administração de MCP solúvel parece conferir alguma proteção na rejeição de xenotransplantes. Uma proteína constituída pela fusão destas duas formas solúveis parece estar associada a uma maior sobrevivência de enxertos em alguns xenotransplantes. Comparações entre estas moléculas e a forma solúvel do CR1 mostraram que este último é mais eficaz na inibição da via clássica. Na inibição da via alterna, as formas solúveis de MCP e CR1 parecem ter a mesma eficácia (50, 97).

O silenciamento de genes pode ser usado para reduzir a expressão de componentes do complemento que são transcritas no órgão doado. Um conjunto de moléculas que interferem com o RNA e que silenciam seletivamente a sua expressão têm sido usadas em rins nativos de ratinhos, com lesão por I/R. Quando administradas intravenosamente dois dias antes da indução da isquemia, estas moléculas parecem ter um papel protetor contra este tipo de lesão renal. Esta terapêutica parece ser uma estratégia futura na prevenção da LRA pós-transplante (76, 98).

## 11 Conclusão

O complemento apresenta um papel essencial na proteção do organismo contra organismos invasores e contra células danificadas. Foi discutido, ao longo desta revisão, como o complemento, ativado pela lesão por I/R, pode mediar uma resposta inflamatória que leva à lesão do organismo. Desta forma, é fácil perceber papel fulcral deste sistema na imunidade inata associada à estimulação de mediadores inflamatórios, tendo sido ainda demonstrado que o déficit de componentes essenciais para cada uma das vias do complemento está associado à regulação negativa da resposta inflamatória.

A via alterna parece ser fundamental para a ampliação desta inflamação e a sua inibição previne a lesão por I/R. Apesar de as outras vias parecerem estar associadas à ativação do complemento, os seus papéis são mais incertos e estudos

futuros nestas aéreas poderiam ser muito úteis para a compreensão da interação do complemento com o rim após lesão por I/R.

Visto que o complemento é um importante mediador entre a imunidade inata e imunidade adaptativa, esse facto torna-o um alvo terapêutico desejável no caso da lesão por I/R após transplante renal, podendo permitir melhorar a função renal a longo prazo.

Por fim, novos fármacos moduladores do sistema do complemento parecem mostrar resultados incentivadores, mas mais estudos serão necessários, de forma a avaliar com maior precisão os seus efeitos em pacientes no período peri-transplante renal e em pacientes com lesão por I/R.



## Referências

1. Murugan R, Kellum JA. Acute kidney injury: what's the prognosis? *Nat Rev Nephrol*. 2011;7(4):209-17.
2. Kellum JA. Acute kidney injury. *Crit Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S141-5.
3. Prowle JR, Liu YL, Licari E, Bagshaw SM, Egi M, Haase M, et al. Oliguria as predictive biomarker of acute kidney injury in critically ill patients. *Crit Care*. 2011;15(4):R172.
4. Rahman M, Shad F, Smith MC. Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management. *Am Fam Physician*. 2012;86(7):631-9.
5. Abuelo JG. Normotensive ischemic acute renal failure. *N Engl J Med*. 2007;357(8):797-805.
6. J.V. SAMB. Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *Blood Purification in Intensive Care* 2001;132:7-21.
7. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med*. 2004;351(2):159-69.
8. Zarbock A, Gomez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury revisited: pathophysiology, prevention and future therapies. *Curr Opin Crit Care*. 2014;20(6):588-95.
9. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant*. 2011;11(11):2279-96.
10. Yu ZX, Qi S, Lasaro MA, Bouchard K, Dow C, Moore K, et al. Targeting Complement Pathways During Cold Ischemia and Reperfusion Prevents Delayed Graft Function. *Am J Transplant*. 2016;16(9):2589-97.
11. Thurman JM. Triggers of inflammation after renal ischemia/reperfusion. *Clin Immunol*. 2007;123(1):7-13.
12. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int*. 2004;66(2):480-5.
13. Brodsky SV, Yamamoto T, Tada T, Kim B, Chen J, Kajiya F, et al. Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: rescue by transplanted endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;282(6):F1140-9.
14. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(6):1503-20.
15. Ysebaert DK, De Greef KE, Vercauteren SR, Ghielli M, Verpooten GA, Eyskens EJ, et al. Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(10):1562-74.
16. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int*. 2004;66(2):486-91.
17. Rabb H, Daniels F, O'Donnell M, Haq M, Saba SR, Keane W, et al. Pathophysiological role of T lymphocytes in renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;279(3):F525-31.
18. Li H, Nord EP. CD40 ligation stimulates MCP-1 and IL-8 production, TRAF6 recruitment, and MAPK activation in proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;282(6):F1020-33.
19. Daha M.R. vKC. Is the proximal tubular cell a proinflammatory cell? *Nephrol Dial Transplant* 2000;15 (Suppl 6):41-3.
20. Kapper S, Beck G, Riedel S, Prem K, Haak M, van der Woude FJ, et al. Modulation of chemokine production and expression of adhesion molecules in renal tubular epithelial and endothelial cells by catecholamines. *Transplantation*. 2002;74(2):253-60.
21. Leemans JC, Stokman G, Claessen N, Rouschop KM, Teske GJ, Kirschning CJ, et al. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney. *J Clin Invest*. 2005;115(10):2894-903.
22. Burne-Taney MJ, Yokota N, Rabb H. Persistent renal and extrarenal immune changes after severe ischemic injury. *Kidney Int*. 2005;67(3):1002-9.

23. Gould SE, Day M, Jones SS, Dorai H. BMP-7 regulates chemokine, cytokine, and hemodynamic gene expression in proximal tubule cells. *Kidney Int.* 2002;61(1):51-60.
24. Doi K, Hu X, Yuen PS, Leelahavanichkul A, Yasuda H, Kim SM, et al. AP214, an analogue of alpha-melanocyte-stimulating hormone, ameliorates sepsis-induced acute kidney injury and mortality. *Kidney Int.* 2008;73(11):1266-74.
25. Thurman JM, Ljubanovic D, Edelstein CL, Gilkeson GS, Holers VM. Lack of a functional alternative complement pathway ameliorates ischemic acute renal failure in mice. *J Immunol.* 2003;170(3):1517-23.
26. Park P, M. Haas, P. N. Cunningham, J. J. Alexander, L. Bao, J. M. Guthridge, D. M. Kraus, V. M. Holers, R. J. Quigg. . Inhibiting the complement system does not reduce injury in renal ischemia reperfusion. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12: 1383.
27. McCullough JW, Renner B, Thurman JM. The role of the complement system in acute kidney injury. *Semin Nephrol.* 2013;33(6):543-56.
28. Thurman JM, Lenderink AM, Royer PA, Coleman KE, Zhou J, Lambris JD, et al. C3a Is Required for the Production of CXC Chemokines by Tubular Epithelial Cells after Renal Ischemia/Reperfusion. *The Journal of Immunology.* 2007;178(3):1819-28.
29. Thurman JM, Ljubanovic D, Royer PA, Kraus DM, Molina H, Barry NP, et al. Altered renal tubular expression of the complement inhibitor Crry permits complement activation after ischemia/reperfusion. *J Clin Invest.* 2006;116(2):357-68.
30. De Vries B, Matthijsen RA, Wolfs TG, Van Bijnen AA, Heeringa P, Buurman WA. Inhibition of complement factor C5 protects against renal ischemia-reperfusion injury: inhibition of late apoptosis and inflammation. *Transplantation.* 2003;75(3):375-82.
31. Thurman JM, Royer PA, Ljubanovic D, Dursun B, Lenderink AM, Edelstein CL, et al. Treatment with an inhibitory monoclonal antibody to mouse factor B protects mice from induction of apoptosis and renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(3):707-15.
32. Renner B, Strassheim D, Amura CR, Kulik L, Ljubanovic D, Glogowska MJ, et al. B cell subsets contribute to renal injury and renal protection after ischemia/reperfusion. *J Immunol.* 2010;185(7):4393-400.
33. Carroll MC, Holers VM. Innate autoimmunity. *Adv Immunol.* 2005;86:137-57.
34. Danobeitia JS DA, Fernandez LA. The role of complement in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury and fibrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair.* 2014;7:16.
35. Lin T, Zhou W, Farrar CA, Hargreaves RE, Sheerin NS, Sacks SH. Deficiency of C4 from donor or recipient mouse fails to prevent renal allograft rejection. *Am J Pathol.* 2006;168(4):1241-8.
36. Park P, Haas M, Cunningham PN, Bao L, Alexander JJ, Quigg RJ. Injury in renal ischemia-reperfusion is independent from immunoglobulins and T lymphocytes. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;282(2):F352-7.
37. De Vries B WS, Peutz-Kootstra CJ, Wolfs TGAM, van Heurn LWE, Buurman WA. The Mannose-Binding Lectin-Pathway Is Involved in Complement Activation in the Course of Renal Ischemia-Reperfusion Injury. . *The American Journal of Pathology.* 2004;165(5)(1677-1688).
38. Collard CD, Montalto MC, Reenstra WR, Buras JA, Stahl GL. Endothelial oxidative stress activates the lectin complement pathway: role of cytokeratin 1. *Am J Pathol.* 2001;159(3):1045-54.
39. Castellano G, Melchiorre R, Loverre A, Ditunno P, Montinaro V, Rossini M, et al. Therapeutic targeting of classical and lectin pathways of complement protects from ischemia-reperfusion-induced renal damage. *Am J Pathol.* 2010;176(4):1648-59.
40. Schwaeble WJ, Lynch NJ, Clark JE, Marber M, Samani NJ, Ali YM, et al. Targeting of mannan-binding lectin-associated serine protease-2 confers protection from myocardial and gastrointestinal ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(18):7523-8.

41. Moller-Kristensen M, Wang W, Ruseva M, Thiel S, Nielsen S, Takahashi K, et al. Mannan-binding lectin recognizes structures on ischaemic reperfused mouse kidneys and is implicated in tissue injury. *Scand J Immunol*. 2005;61(5):426-34.
42. Thurman JM, Holers VM. The Central Role of the Alternative Complement Pathway in Human Disease. *The Journal of Immunology*. 2006;176(3):1305-10.
43. Thurman JM, Lucia MS, Ljubanovic D, Holers VM. Acute tubular necrosis is characterized by activation of the alternative pathway of complement. *Kidney Int*. 2005;67(2):524-30.
44. Fearn A, Sheerin NS. Complement activation in progressive renal disease. *World J Nephrol*. 2015;4(1):31-40.
45. Leshner AM, Song WC. Review: Complement and its regulatory proteins in kidney diseases. *Nephrology (Carlton)*. 2010;15(7):663-75.
46. Barilla-LaBarca ML, Liszewski MK, Lambris JD, Hourcade D, Atkinson JP. Role of membrane cofactor protein (CD46) in regulation of C4b and C3b deposited on cells. *J Immunol*. 2002;168(12):6298-304.
47. Renner B, Coleman K, Goldberg R, Amura C, Holland-Neidermyer A, Pierce K, et al. The Complement Inhibitors Crry and Factor H Are Critical for Preventing Autologous Complement Activation on Renal Tubular Epithelial Cells. *The Journal of Immunology*. 2010;185(5):3086-94.
48. Zipfel PF, Skerka C. Complement regulators and inhibitory proteins. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(10):729-40.
49. Blom AM, Villoutreix BO, Dahlback B. Complement inhibitor C4b-binding protein-friend or foe in the innate immune system? *Mol Immunol*. 2004;40(18):1333-46.
50. Mollnes TE, Kirschfink M. Strategies of therapeutic complement inhibition. *Mol Immunol*. 2006;43(1-2):107-21.
51. Renner B, Ferreira VP, Cortes C, Goldberg R, Ljubanovic D, Pangburn MK, et al. Binding of factor H to tubular epithelial cells limits interstitial complement activation in ischemic injury. *Kidney Int*. 2011;80(2):165-73.
52. Pangburn MK, Pangburn KWL, Koistinen V, Meri S, Sharma AK. Molecular Mechanisms of Target Recognition in an Innate Immune System: Interactions Among Factor H, C3b, and Target in the Alternative Pathway of Human Complement. *The Journal of Immunology*. 2000;164(9):4742-51.
53. Yamada K, Miwa T, Liu J, Nangaku M, Song W-C. Critical Protection from Renal Ischemia Reperfusion Injury by CD55 and CD59. *The Journal of Immunology*. 2004;172(6):3869-75.
54. Miwa T, Sato S, Gullipalli D, Nangaku M, Song W-C. Blocking Properdin, the Alternative Pathway, and Anaphylatoxin Receptors Ameliorates Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Decay-Accelerating Factor and CD59 Double-Knockout Mice. *The Journal of Immunology*. 2013;190(7):3552-9.
55. Gaarkeuken H, Siezenga MA, Zuidwijk K, van Kooten C, Rabelink TJ, Daha MR, et al. Complement activation by tubular cells is mediated by properdin binding. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295(5):F1397-403.
56. Farrar CA, Zhou W, Lin T, Sacks SH. Local extravascular pool of C3 is a determinant of postischemic acute renal failure. *FASEB J*. 2006;20(2):217-26.
57. Naesens M, Li L, Ying L, Sansanwal P, Sigdel TK, Hsieh SC, et al. Expression of complement components differs between kidney allografts from living and deceased donors. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(8):1839-51.
58. Farrar CA, Wang Y, Sacks SH, Zhou W. Independent pathways of P-selectin and complement-mediated renal ischemia/reperfusion injury. *Am J Pathol*. 2004;164(1):133-41.
59. Fayyazi A SO, Werfel T, Schweyer S, Oppermann M, Götze O, Radzun HJ, Zwirner J. The C5a receptor is expressed in normal renal proximal tubular but not in normal pulmonary or hepatic epithelial cells. *Immunology*. 2000 99(1):38-45.

60. Zahedi R BM, Wetsel RA, et al. . The C5a receptor is expressed by human renal proximal tubular epithelial cells. *Clinical and Experimental Immunology*. 2000;121(2):226-33.
61. Peng Q, Li K, Smyth LA, Xing G, Wang N, Meader L, et al. C3a and C5a promote renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(9):1474-85.
62. Braun MC, Reins RY, Li T-b, Hollmann TJ, Dutta R, Rick WA, et al. Renal Expression of the C3a Receptor and Functional Responses of Primary Human Proximal Tubular Epithelial Cells. *The Journal of Immunology*. 2004;173(6):4190-6.
63. Mueller-Ortiz SL, Hollmann TJ, Haviland DL, Wetsel RA. Ablation of the complement C3a anaphylatoxin receptor causes enhanced killing of *Pseudomonas aeruginosa* in a mouse model of pneumonia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291(2):L157-65.
64. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med*. 2006;354(6):610-21.
65. Bao L, Osawe I, Haas M, Quigg RJ. Signaling through Up-Regulated C3a Receptor Is Key to the Development of Experimental Lupus Nephritis. *The Journal of Immunology*. 2005;175(3):1947-55.
66. Sahu A LJ. Structure and biology of complement protein C3, a connecting link between innate and acquired immunity. *Immunol Rev* 2001;180:35-48.
67. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*. 2010;11(9):785-97.
68. Fondevila C, Shen XD, Tsuchihashi S, Uchida Y, Freitas MC, Ke B, et al. The membrane attack complex (C5b-9) in liver cold ischemia and reperfusion injury. *Liver Transpl*. 2008;14(8):1133-41.
69. Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, et al. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2000;105(10):1363-71.
70. Dobrina A, Pausa M, Fischetti F, Bulla R, Vecile E, Ferrero E, et al. Cytolytically inactive terminal complement complex causes transendothelial migration of polymorphonuclear leukocytes in vitro and in vivo. *Blood*. 2002;99(1):185-92.
71. Pratt JR JM, Dong J, et al. . Nontransgenic Hyperexpression of a Complement Regulator in Donor Kidney Modulates Transplant Ischemia/Reperfusion Damage, Acute Rejection, and Chronic Nephropathy. . *The American Journal of Pathology*. 2003 163(4):1457-65.
72. Rao PS, Schaubel DE, Guidinger MK, Andreoni KA, Wolfe RA, Merion RM, et al. A comprehensive risk quantification score for deceased donor kidneys: the kidney donor risk index. *Transplantation*. 2009;88(2):231-6.
73. Herrero-Fresneda I, Torras J, Cruzado JM, Condom E, Vidal A, Riera M, et al. Do Alloreactivity and Prolonged Cold Ischemia Cause Different Elementary Lesions in Chronic Allograft Nephropathy? *The American Journal of Pathology*. 2003;162(1):127-37.
74. Pratt JR, Basheer SA, Sacks SH. Local synthesis of complement component C3 regulates acute renal transplant rejection. *Nat Med*. 2002;8(6):582-7.
75. Pratt JR, Abe K, Miyazaki M, Zhou W, Sacks SH. In situ localization of C3 synthesis in experimental acute renal allograft rejection. *Am J Pathol*. 2000;157(3):825-31.
76. Sacks SH, Zhou W. The role of complement in the early immune response to transplantation. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(6):431-42.
77. Giraud S, Thuillier R, Belliard A, Hebrard W, Nadeau C, Milin S, et al. Direct thrombin inhibitor prevents delayed graft function in a porcine model of renal transplantation. *Transplantation*. 2009;87(11):1636-44.
78. Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, Rittirsch D, Neff TA, McGuire SR, et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med*. 2006;12(6):682-7.

79. Chen J, Vemuri C, Palekar RU, Gaut JP, Goette M, Hu L, et al. Antithrombin nanoparticles improve kidney reperfusion and protect kidney function after ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2015;308(7):F765-73.
80. Patel H, Smith RA, Sacks SH, Zhou W. Therapeutic strategy with a membrane-localizing complement regulator to increase the number of usable donor organs after prolonged cold storage. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(4):1102-11.
81. Damman J, Hoeger S, Boneschansker L, Theruvath A, Waldherr R, Leuvenink HG, et al. Targeting complement activation in brain-dead donors improves renal function after transplantation. *Transpl Immunol*. 2011;24(4):233-7.
82. Thurman JM, Le Quintrec M. Targeting the complement cascade: novel treatments coming down the pike. *Kidney Int*. 2016;90(4):746-52.
83. Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, et al. Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12(12):3337-54.
84. Al-Ani F, Chin-Yee I, Lazo-Langner A. Eculizumab in the management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: patient selection and special considerations. *Ther Clin Risk Manag*. 2016;12:1161-70.
85. Carroll MC. The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol*. 2004;5(10):981-6.
86. Locke JE, Magro CM, Singer AL, Segev DL, Haas M, Hillel AT, et al. The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2009;9(1):231-5.
87. Ponticelli C. Ischaemia-reperfusion injury: a major protagonist in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(6):1134-40.
88. Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, Truedsson L. Complement deficiency states and associated infections. *Mol Immunol*. 2011;48(14):1643-55.
89. Diepenhorst GM, van Gulik TM, Hack CE. Complement-mediated ischemia-reperfusion injury: lessons learned from animal and clinical studies. *Ann Surg*. 2009;249(6):889-99.
90. Fattouch K, Bianco G, Speziale G, Sampognaro R, Lavalle C, Guccione F, et al. Beneficial effects of C1 esterase inhibitor in ST-elevation myocardial infarction in patients who underwent surgical reperfusion: a randomised double-blind study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;32(2):326-32.
91. Vo AA, Zeevi A, Choi J, Cisneros K, Toyoda M, Kahwaji J, et al. A phase I/II placebo-controlled trial of C1-inhibitor for prevention of antibody-mediated rejection in HLA sensitized patients. *Transplantation*. 2015;99(2):299-308.
92. Viglietti D, Gosset C, Loupy A, Deville L, Verine J, Zeevi A, et al. C1 Inhibitor in Acute Antibody-Mediated Rejection Nonresponsive to Conventional Therapy in Kidney Transplant Recipients: A Pilot Study. *Am J Transplant*. 2016;16(5):1596-603.
93. Mahaffey KW, Van de Werf F, Shernan SK, Granger CB, Verrier ED, Filloon TG, et al. Effect of pexelizumab on mortality in patients with acute myocardial infarction or undergoing coronary artery bypass surgery: a systematic overview. *Am Heart J*. 2006;152(2):291-6.
94. Lazar HL, Bokesch PM, van Lenta F, Fitzgerald C, Emmett C, Marsh HC, Jr., et al. Soluble human complement receptor 1 limits ischemic damage in cardiac surgery patients at high risk requiring cardiopulmonary bypass. *Circulation*. 2004;110(11 Suppl 1):II274-9.
95. Arumugam TV, Shiels IA, Strachan AJ, Abbenante G, Fairlie DP, Taylor SM. A small molecule C5a receptor antagonist protects kidneys from ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney Int*. 2003;63(1):134-42.
96. de Vries B, Köhl J, Leclercq WKG, Wolfs TGAM, van Bijnen AAJHM, Heeringa P, et al. Complement Factor C5a Mediates Renal Ischemia-Reperfusion Injury Independent from Neutrophils. *The Journal of Immunology*. 2003;170(7):3883-9.
97. Kroshus TJ, Salerno CT, Yeh CG, Higgins PJ, Bolman RM, 3rd, Dalmaso AP. A recombinant soluble chimeric complement inhibitor composed of human CD46 and

CD55 reduces acute cardiac tissue injury in models of pig-to-human heart transplantation. *Transplantation*. 2000;69(11):2282-9.

98. Zheng X, Zhang X, Feng B, Sun H, Suzuki M, Ichim T, et al. Gene silencing of complement C5a receptor using siRNA for preventing ischemia/reperfusion injury. *Am J Pathol*. 2008;173(4):973-80.

## ANEXO A:

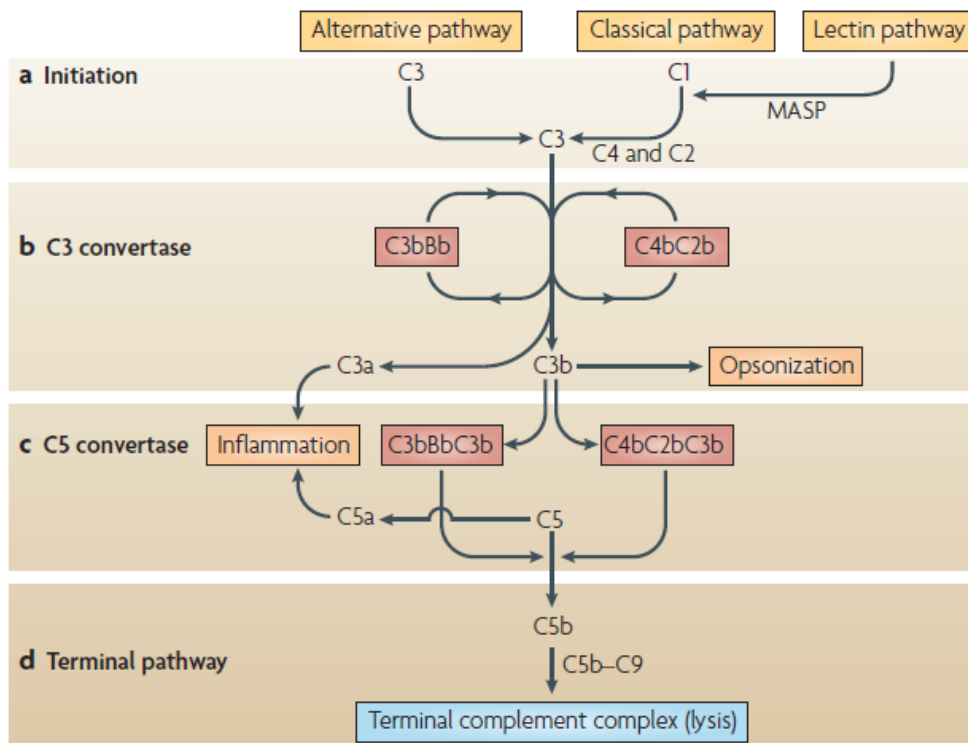


Figura 1 – Vias de Ativação do Complemento (48).

## ANEXO B:

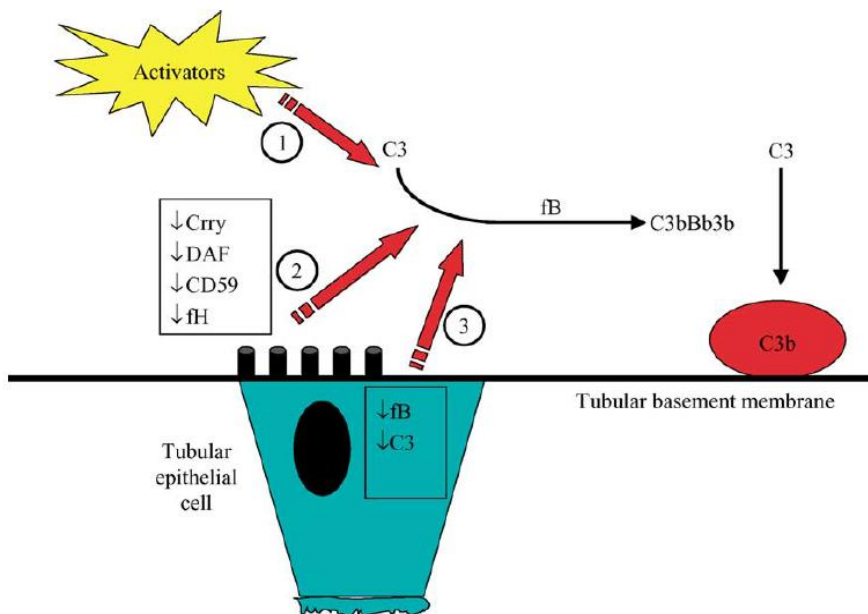
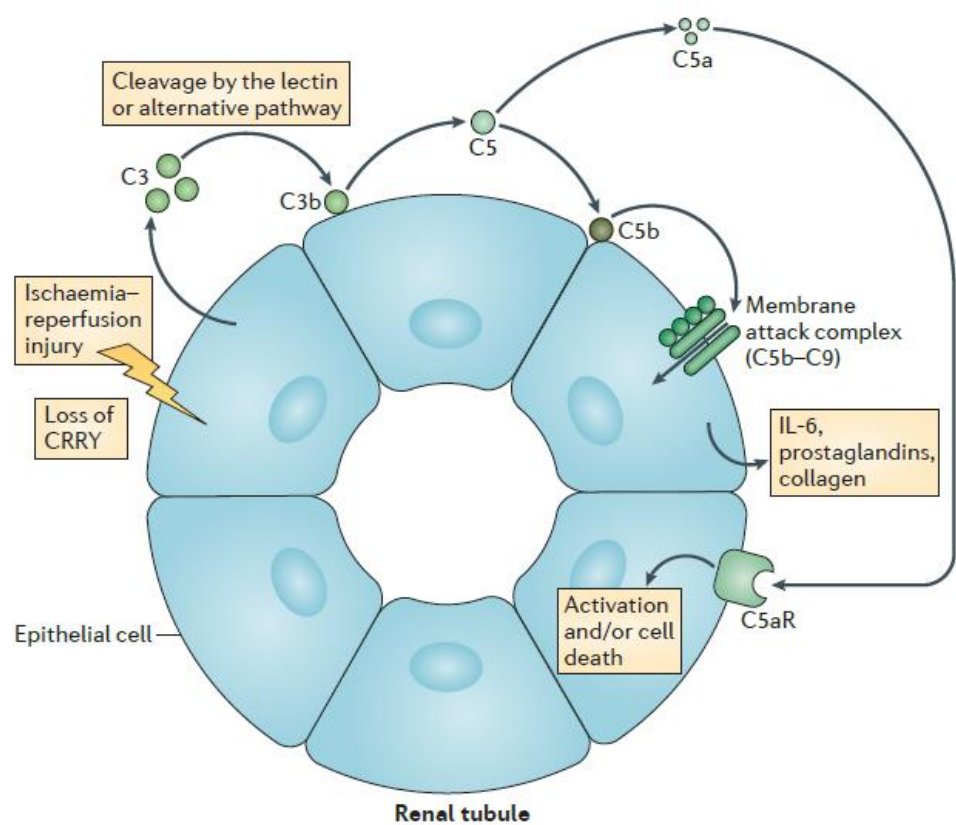


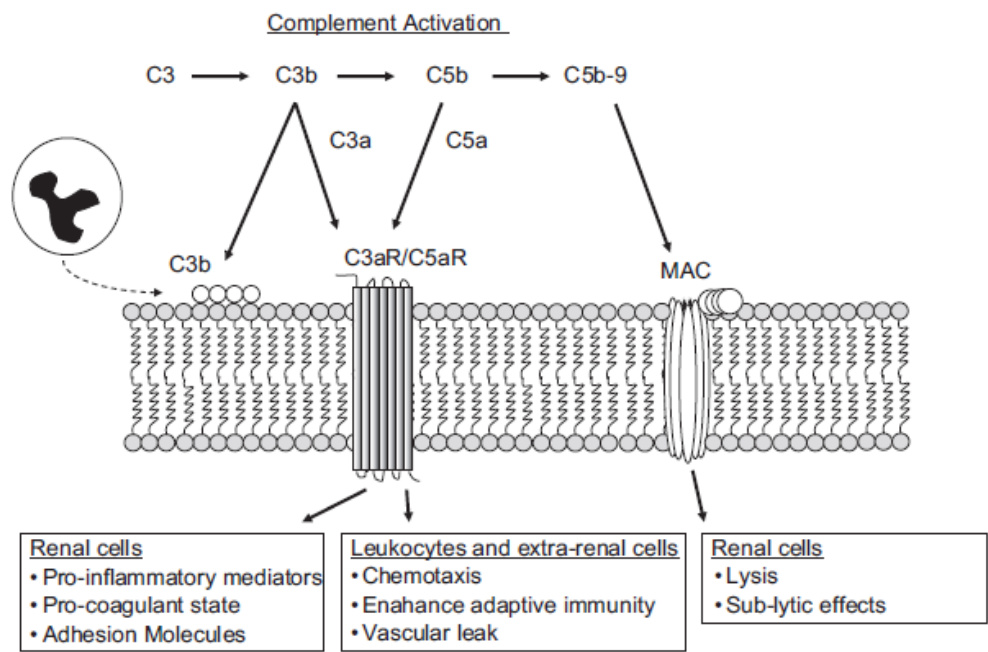
Figura 2 – Potenciais mecanismos pelos quais a via alterna pode ser ativada nos túbulos renais na lesão pós- I/R. (1) Aumento dos ativadores do complemento. (2) Diminuição dos níveis das proteínas reguladoras. (3) Produção local de componentes da via alterna que promovem deposição de C3 e lesão tubular (33).

**ANEXO C:**



**Figura 4 – Resposta celular epitelial à lesão pós- I/R(76)**

**ANEXO D:**



**Figura 3 - Efeitos pró-inflamatórios da ativação do complemento (27).**